

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Mod. C.E. - 1-4 7
PCT/IB 04 / 02520
(29.07.04)

MAILED 12 AUG 2004	
WIPO	PCT

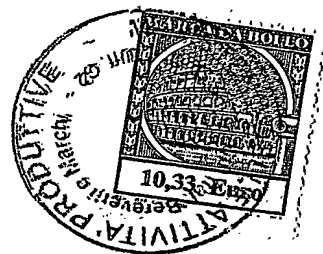
Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

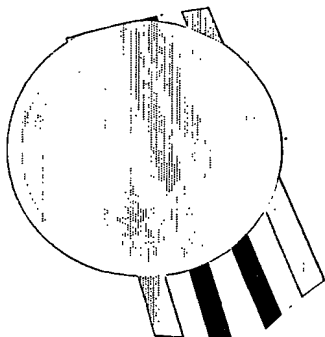
**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
Invenzione industriale N. MI2003A001610**



Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

177 GIU. 2004

Roma, li.....



IL FUNZIONARIO

Giampietro Carlotta

Giampietro Carlotta

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE. DEPOSITO RISERVE. ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione Clariant Life Science Molecules (Italia) Spa

N.G.

SP

Residenza Origgio (VA)

codice _____

2) Denominazione _____

Residenza _____

codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Fraire Cristina ed altri

cod. fiscale _____

denominazione studio di appartenenza Dragotti & Associati Srlvia Galleria San Babila n. 4 C città Milanocap 20122 (prov. MI)

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap _____ (prov. _____)

D. TITOLO

classe proposta (sez./cl./scf) _____ gruppo/sottogruppo _____

Processo per la preparazione di 2',3'dideidro-2',3'-didesossinucleosidi e di 2',3'dideossinucleosidi.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1) BERTOLINI Giorgio3) CASTOLDI Patrizia2) VELATI Maurizio4) DELEO Maurizio

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data _____ N° Protocollo _____

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R
1) _____	_____	_____	____/____/____	_____
2) _____	_____	_____	____/____/____	_____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICROORGANISMI. denominazione:

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc.	N. es.	PROV.	n. pag.	n. tav.	contenuto
Doc. 1.	2	PROV.	21	///	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
Doc. 2.	0	PROV.	///	///	disegno (obbligatorio se citato in descrizione 1 esemplare)
Doc. 3.	1	RIS			XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX Dich. Sost.
Doc. 4.	0	RIS			designazione inventore
Doc. 5.	0	RIS			documenti di priorità con traduzione in italiano
Doc. 6.	0	RIS			autorizzazione o atto di cessione
Doc. 7.	0				nominalativo completo del richiedente

Etichetta o versamento, totale Euro

=Duecentonovantuno/80=

obbligatorio

COMPILATO IL 05 08 2003

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

p.p. Clariant Life Science Molecules (Italia)CONTINUA SI/NO SISpaDEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SICAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI MILANO

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2003A 001610

Reg. A

L. anno DUEMILATREL. giorno CINQUEdel mese di AGOSTO

Il richiedente, soprannominato, ha avuto presente e ha sottoscritto la presente domanda, corredata di:

01 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto soprannominato

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

L'UFFICIALE ROGANTE

FOGLIO AGGIUNTIVO n. 01 di totali 01DOMANDA N° MI2003A 001610

REG. A

A. RICHIEDENTE (I)

NG

Denominazione		codice	
Residenza			
Denominazione		codice	
Residenza			
Denominazione		codice	
Residenza			
Denominazione		codice	
Residenza			
Denominazione		codice	
Residenza			
Denominazione		codice	
Residenza			

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome	cognome nome
05 FRIGERIO Marco	

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R	SCIOGLIMENTO RISERVE	
					Data	N° Protocollo

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I) p.p. Clariant Life Science Molecules (Italia)Spa

Cristina Frate

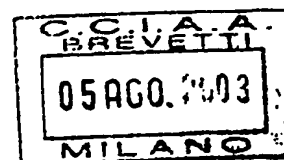
SPAZIO RISERVATO ALL'UFFICIO CENTRALE BREVETTI

DATA DI RILASCIO: 11/11/1981

M. DISEGNO

M 2003 A U 01610

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale a nome di Clariant Life Science Molecules (Italia) Spa con sede a Origgio (VA).



La presente invenzione riguarda un processo per la preparazione di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi e di 2',3'-didesossinucleosidi e, più in particolare, riguarda un processo per la preparazione di questi composti che comprende l'eliminazione riduttiva di 2',3'-didesossi - 2'(3')-(alo) - 3'(2')-acil-nucleosidi con zinco e un opportuno agente attivante, detto processo essendo caratterizzato da una nuova procedura di rimozione dello zinco bivalente dal mezzo di reazione particolarmente vantaggiosa dal punto di vista industriale.

CAMPO DELL'INVENZIONE

I 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi e i 2',3'-didesossinucleosidi fanno parte di un'importante classe terapeutica, la classe dei cosiddetti "mimetici dei nucleosidi", generalmente dotati di attività antitumorale ed antivirale. Dal punto di vista strutturale questi composti sono caratterizzati da alcune modifiche della porzione zuccherina del nucleoside, in particolare dall'assenza dei gruppi ossidrilici nelle posizioni 2',3' (didesossi) e dalla eventuale presenza di un doppio legame in 2',3' (dideidro).

Come esempi della classe dei 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi si possono citare Stavudina (Merck Index, n.8881, 2001), 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro- β -D-citidina (β -D-Fd4C) (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (1998), 8, 3245-3250) e 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro- β -L-citidina (β -L-Fd4C) (Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (1998), 8, 3245-3250)

Christina Biondi

I 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi, oltre a presentare delle interessanti proprietà farmacologiche di per sé, vengono anche impiegati come intermedi nella preparazione di altre classi di mimetici di nucleosidi, ad esempio dei 2',3'-didesossinucleosidi, quali Didanosina (Merck Index n. 3125, 2001), Didesossiadenosina (Merck Index n. 3128, 2001), Zalcitabina (Merck Index n. 10163, 2001), ottenibili per riduzione del doppio legame in 2', 3' dei corrispondenti precursori 2',3'-dideidro, come riportato ad esempio in J. Org. Chem. (1989), 54, 2217-2225 e in J. Org. Chem. (1989) 54, 4780-4785.

In letteratura sono stati descritti diversi metodi di sintesi di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi.

Di particolare rilievo nel presente contesto sono i metodi di eliminazione riduttiva di 2', 3' - didesossi - 2' (3') - (alo) - 3' (2') - acil - nucleosidi, opportunamente protetti, per reazione con zinco e un idoneo agente attivante.

Esempi di questi processi si trovano in EP334368 (Mansuri et al), nel quale viene descritta la sintesi di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi per riduzione con zinco e rame, in US5466793 (Ajinomoto) per reazione con zinco e acido acetico e nella domanda di brevetto italiana n. MI2000A000810 (Archimica S.p.A.), nella quale viene riportata la preparazione di stavudina e di suoi precursori, attraverso l'eliminazione riduttiva di cui sopra effettuata con zinco e sali di ammonio o fosfonio.

In tutte queste reazioni, indipendentemente dal sistema attivante utilizzato, si ha formazione di zinco bivalente come sottoprodotto della reazione ossido-riduttiva.

Fig. 1
Sintesi

Come è ben noto all'esperto del ramo, è necessario minimizzare la presenza di zinco bivalente nel 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleoside finale, sia nel caso in cui detto prodotto rappresenti la molecola terapeuticamente attiva, per le possibili implicazioni tossicologiche, e sia nel caso in cui esso venga impiegato come intermedio e sottoposto ad idrogenazione catalitica, per l'azione avvelenante dello zinco sul catalizzatore di idrogenazione, come discusso in US5466793 e US5290927.

I processi sopra citati, pur consentendo di ottenere i prodotti desiderati con rese soddisfacenti, presentano una limitata applicabilità industriale proprio a causa delle procedure di rimozione dello zinco bivalente messe in atto. In particolare, per ottenere un prodotto finale di purezza soddisfacente in EP334368A2 (sintesi D4U pag. 16), si ricorre ad una purificazione cromatografica del grezzo lavorato, mentre nella domanda MI2000A000810 si procede ad una lavorazione piuttosto complessa.

Più in generale i metodi riportati in letteratura per l'eliminazione dello zinco bivalente da questo tipo di prodotti comprendono:

- tecniche cromatografiche (Acta Chem. Scand. B 36 (1982) 251-253)
- precipitazione dello zinco bivalente come idrossido di zinco per aggiunta di quantità elevate di una resina a scambio ionico basica, come Amberlyst 27 (solitamente 20-30 ml di resina per grammo di prodotto), seguita da una successiva filtrazione dello zinco idrossido (J. Org. Chem. (1989) 54, 4780-4785). La filtrazione dello zinco idrossido risulta spesso difficoltosa per la formazione di gel.
- estrazione dello zinco bivalente per lavaggio acquoso con agenti chelanti, in particolare con EDTA. In questo caso sono richieste quantità

Cristina Fenu

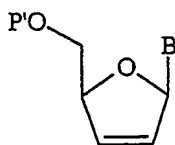
notevoli di EDTA (circa 10 grammi di EDTA per grammo di prodotto) per allontanare tutto lo zinco (Nucleosides & Nucleotides (1996) 15, 47-58). Inoltre questa procedura non può essere utilizzata se il prodotto è solubile o parzialmente solubile in acqua a causa delle notevoli perdite dello stesso nella fase acquosa.

In conclusione, i metodi sopra elencati sono particolarmente laboriosi e/o non applicabili convenientemente su grossa scala e la rimozione dello zinco bivalente rappresenta tuttora uno dei principali problemi irrisolti nell'uso industriale di questa via di sintesi, altrimenti interessante, per preparare 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi.

Abbiamo ora trovato un nuovo procedimento di rimozione dello zinco bivalente in questo tipo di reazioni particolarmente semplice, efficace e di facile applicazione industriale che rende la preparazione di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi molto vantaggiosa rispetto ai metodi descritti in letteratura.

RIASSUNTO DELL'INVENZIONE

Costituisce pertanto l'oggetto della presente invenzione un processo per la preparazione di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi di formula



(I)

in cui

P' rappresenta idrogeno o un idoneo gruppo proteggente P e

B rappresenta una base purinica o pirimidinica, naturale o modificata, eventualmente sostituita oppure un sistema eterociclico, eventualmente



Handwritten signature: Cristiana

sostituito, monociclico a cinque o sei membri o biciclico a undici-dodici membri contenente almeno un atomo di azoto;
che comprende la reazione di eliminazione riduttiva del composto di formula



in cui

X e Y rappresentano alternativamente un alogeno o un gruppo acilossi RCOO-

P' e B hanno i significati sopra riportati,

per reazione con zinco metallico ed un opportuno agente attivante, caratterizzato dal fatto di rimuovere lo zinco bivalente per precipitazione, da una fase organica, del corrispondente solfuro di zinco, mediante aggiunta a detta fase organica di una soluzione di un solfuro di un metallo alcalino o alcalino terroso.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Il processo di preparazione di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi di formula I oggetto della presente invenzione comprende la reazione di eliminazione riduttiva di un composto di formula II.

Nei composti di formula I e di formula II di cui sopra, i sostituenti P', P, B, X e Y assumono i seguenti significati:

- P' rappresenta un idrogeno o un gruppo proteggente la funzione idrossilica P, resistente alle condizioni di riduzione qui impiegate, come descritto ad esempio da Theodora W. Greene, Protective Groups in Organic

Cristina

Synthesis, preferibilmente P' rappresenta un gruppo proteggente P.

Preferibilmente P rappresenta un benzile, un tritile, eventualmente sostituiti, oppure un gruppo silile stabile alle condizioni debolmente acide, come ad esempio dimetiltertbutilsilile o difeniltertbutilsilile, oppure un acile RCO-, in cui R rappresenta H, un alchile R^1 , un arile Ar eventualmente sostituito oppure un gruppo $R^1COOC(R^2R^3)$ -, in cui R^1 , R^2 e R^3 rappresentano H oppure un alchile C_1-C_{11} lineare o ramificato.

Preferibilmente P rappresenta un gruppo acile RCO- in cui R rappresenta un alchile R^1 C_1-C_5 , preferibilmente un metile o etile, oppure un arile Ar, eventualmente sostituito, preferibilmente un p-metilfenile, oppure un gruppo $R^1COOC(R^2R^3)$ - in cui R^1 , R^2 e R^3 rappresentano un alchile C_1-C_5 , preferibilmente un metile.

- B rappresenta una base purinica o pirimidinica, naturale o eventualmente sostituita, ad esempio fluorurata o metilata, o modificata nell'anello, ad esempio azasostituita, oppure un sistema eterociclico monociclico a cinque membri - come ad esempio un imidazolo, un pirazolo o un triazolo, eventualmente sostituiti - o sei membri - come ad esempio una triazina, eventualmente sostituite - o biciclico ad undici-dodici membri (sistemi 6,5 e 6,6) - come ad esempio un benzimidazolo, eventualmente sostituiti - contenenti almeno un atomo di azoto. Basi preferite sono le basi puriniche o pirimidiniche, naturali o eventualmente sostituite, ad esempio fluorurate o metilate quali, ad esempio adenosina, inosina, 5-fluorocitidina e metiluridina.

- X e Y rappresentano, alternativamente, un alogeno scelto tra cloro, bromo e iodio, e un gruppo acilossi RCOO-, in cui R assume i significati sopra

Dittura Frain

riportati.

Preferibilmente X e Y rappresentano, alternativamente, bromo e un gruppo acilossi RCOO- , in cui R rappresenta un alchile R^1 , scelto tra metile o etile, preferibilmente metile, oppure un p-metilfenile, oppure un gruppo $\text{R}^1\text{COOC}(\text{R}^2\text{R}^3)-$, in cui R^1 , R^2 e R^3 rappresentano un metile.

Esempi di composti di formula II particolarmente preferiti sono i composti in cui X e Y rappresentano alternativamente un bromo e un gruppo acilossi RCOO- , dove R rappresenta preferibilmente un gruppo CH_3 o un gruppo $\text{CH}_3\text{COOC}(\text{CH}_3)_2-$, P' rappresenta un gruppo protettivo acile RCO- , dove R rappresenta un gruppo CH_3 o un $\text{CH}_3\text{COOC}(\text{CH}_3)_2-$ e B rappresenta adenina, 5-F-citosina, inosina, ipoxantina o timina. Secondo la presente invenzione sono particolarmente preferiti i composti di formula II in cui il gruppo P e il gruppo X (o Y) sono uguali tra loro.

In ogni caso la struttura specifica della base B prescelta e del gruppo protettivo P non sono vincolanti ai fini della presente invenzione e non vanno interpretati come limitanti lo scopo della stessa.

I precursori di formula II possono venire preparati secondo metodi descritti in letteratura, ad esempio, come riportato in US5290927 oppure in EP334368, qui incorporati come riferimento.

La reazione di eliminazione riduttiva dei composti di formula II a dare i composti di formula I del presente processo viene effettuata secondo condizioni già descritte nell'arte per reazione con zinco metallico ed un opportuno agente attivante, come ad esempio rame (EP334368) oppure acido acetico (J. Org. Chem. (1989) 54, 4780-4785) oppure, preferibilmente, sali di ammonio o fosfonio (MI2000A000810), qui

Cristina Ferra

incorporati come riferimento.

Quest'ultima variante è particolarmente preferita in quanto consente l'ottenimento dei prodotti di formula I con rese superiori e minor formazione di sottoprodotti rispetto agli altri metodi noti e senza utilizzare altri metalli potenzialmente tossici, di difficile smaltimento. Tuttavia il metodo di rimozione dello zinco bivalente oggetto della presente invenzione mantiene una sua applicabilità generale nei processi di eliminazione riduttiva di questo tipo indipendentemente dall'agente attivante impiegato.

Le condizioni sperimentali generali della reazione di eliminazione riduttiva di cui sopra prevedono l'uso di solventi quali tetraidrofurano, dimetilacetammide, alcoli (metanolo, etanolo isopropanolo), acetonitrile, solventi clorurati (cloruro di metilene), dimetilsolfossido o miscele di questi solventi (ad esempio acetonitrile-cloruro di metilene), di zinco (da 1 a 5 equivalenti, preferibilmente da 2 a 4 equivalenti) e di un agente attivante quale rame metallico oppure acidi carbossilici come acido acetico oppure, preferibilmente, sali di ammonio o fosfonio (da 0,1 a 3 equivalenti, preferibilmente da 0,5 a 1,5 equivalenti) ad una temperatura generalmente compresa tra 0°C e 60°C, preferibilmente tra 20°C e 30°C. Le condizioni sperimentali generali ed, in particolare, gli equivalenti di reattivi e la temperatura di reazione preferiti variano in base al substrato e al solvente utilizzato, e non intendono limitare lo scopo della presente invenzione.

Il processo secondo la presente invenzione è caratterizzato dalla rimozione per precipitazione come solfuro di zinco dello zinco bivalente da una fase organica, preferibilmente dal medium di reazione, mediante aggiunta di una



Handwritten signature
Criscuolo

soluzione, preferibilmente acquosa, di solfuri di metalli alcalini e alcalino-terrosi, preferibilmente solubili in acqua, come ad esempio solfuro di sodio ad una temperatura compresa tra 0°C e 60°C, preferibilmente tra 15°C e 30°C.

La fase organica, preferibilmente il medium di reazione, è generalmente costituita da solventi quali tetraidrofurano, dimetilacetammide, alcoli ad esempio metanolo, etanolo isopropanolo, acetonitrile, solventi clorurati quali cloruro di metilene, dimetilsolfossido o miscele di questi solventi, ad esempio miscele acetonitrile-cloruro di metilene, preferibilmente da tetraidrofurano o miscela di acetonitrile e cloruro di metilene.

La soluzione del solfuro comprende un solvente polare, generalmente scelto tra solventi aprotici dipolari come dimetilformammide o dimetilsolfossido e acqua, preferibilmente acqua, e il solfuro prescelto in quantità di almeno un equivalente rispetto al prodotto di partenza, preferibilmente in leggero eccesso.

Solfuri inorganici preferiti sono i solfuri alcalini o alcalino-terrosi più solubili in acqua, quali solfuro di sodio, di potassio e di litio, preferibilmente solfuro di sodio.

La soluzione del solfuro viene generalmente preparata dissolvendo il solfuro prescelto nella minima quantità di solvente ad una temperatura generalmente compresa tra 0°C e 100°C preferibilmente tra 40°C e 60°C.

Nella sua realizzazione preferita si rimuove lo zinco bivalente per precipitazione del solfuro di zinco mediante l'aggiunta di una soluzione acquosa di solfuro di sodio (sciolto a 45-55°C), direttamente alla soluzione di reazione in tetraidrofurano o in una miscela di acetonitrile e cloruro di

Cristina

metilene mantenuta ad una temperatura compresa 15°C e 30°C.

La rimozione del solfuro di zinco così formato può essere effettuata secondo tecniche convenzionali quali ad esempio centrifugazione, decantazione o filtrazione.

Esempi di composti di formula I ($P'=P$) preferiti, ottenibili secondo il processo della presente invenzione, sono 5'-acil-2',3'-dideidro-2',3'-didesossiadenosina, 5'-acil-2',3'-dideidro-2',3'-didesossiinosina, 5'-acil-2',3'-dideidro-2',3'-5-fluorocitidina, 5'-acil-2',3'-dideidro-2',3'-citidina, 5'-acil-2',3'-dideidro-2',3'-didesossimetiluridina, ancora più preferiti 5'-(2-acetossiisobutirril)-2',3'-dideidro-2',3'-didesossi-5-fluorocitidina (formula I, $P=CH_3COOC(CH_3)_2CO-$, $B=5$ -fluoro-citosina) 5'-(2-acetossiisobutirril)-2',3'-dideidro-2',3'-didesossiadenosina (formula I, $P=CH_3COOC(CH_3)_2CO-$, $B=adenina$), 5'-(2-acetossiisobutirril)-2',3'-dideidro-2',3'-didesossiinosina (formula I, $P=CH_3COOC(CH_3)_2CO-$, $B=ipoxantina$), e 5'-acetil-stavudina (formula I, $P=CH_3CO$, $B=timina$).

Il composto di formula I ottenuto in accordo con la presente invenzione, potrà poi essere sottoposto a semplice deprotezione, fornendo così il corrispondente 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleoside deprotetto (formula I, $P'=H$), secondo metodiche ben note nell'arte, oppure a reazioni successive, senza necessitare di ulteriori trattamenti di purificazione anti-economici, complessi e di scarsa applicabilità industriale. Un aspetto particolarmente preferito della presente invenzione prevede la preparazione di 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro-β-D-citidina (formula I, $P'=H$, $B=5$ -fluoro-citidina), stavudina ($P'=H$, $B=timina$) per semplice deprotezione, eventualmente one-pot, del corrispondente 2',3'-didesossi-

Cristina

2',3'-dideidronucleoside protetto in 5' (formula I, $P'=P$), preparato secondo l'invenzione.

In alternativa il composto di formula I, preferibilmente in forma protetta ($P=P'$), può essere sottoposto a reazioni successive, preferibilmente di riduzione del doppio legame 2',3', in condizioni classiche, eventualmente one-pot, fornendo in tal caso, previa deprotezione in 5', i corrispondenti 2',3'-didesossinucleosidi (formula II, $X=Y=P'=H$).

Esempi preferiti di tali composti (formula II, $P'=H$, $X=Y=H$), ottenibili per eliminazione riduttiva, rimozione dello zinco secondo la presente invenzione, successiva riduzione del doppio legame 2',3' e deprotezione finale secondo quanto sopra descritto sono didesossiadenosina (ddA, II, $P'=X=Y=H$, B=adenina), didanosina (II, $P'=X=Y=H$, B=inosina), zalcitabina (II, $P'=X=Y=H$, B=citidina).

Allo scopo di meglio illustrare la presente invenzione, senza tuttavia volerla limitare, vengono ora presentate le seguenti prove sperimentali.

ESEMPI

ESEMPIO 1

5-Fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro- β -D-citidina (β -D-Fd4C)

Ad una sospensione di 5-Fluorocitidina (25 g) in acetato di etile (195 ml) e acetonitrile (47 ml) si gocciola il 2-acetossiisobutirrilbromuro (56 ml) a 5°C. Si agita la miscela di reazione a 15-20°C per una notte, quindi si raffredda la soluzione a 5°C e si aggiunge una soluzione di bicarbonato di potassio (63 g) in acqua (290 ml) mantenendo la temperatura al di sotto di 15°C. Si agita la miscela di reazione a 25°C per 30 minuti controllando che la fase acquosa abbia un pH di circa 8. Si separano le fasi e si estrae la fase

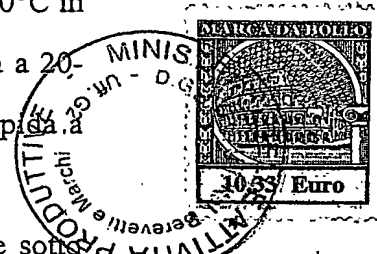
4.2.2
citidina

acquosa con acetato di etile (100 ml). Si lavano le fasi organiche riunite con una soluzione al 15% di cloruro di sodio in acqua (125 ml) e si secca su solfato di magnesio anidro. Si evapora il solvente a pressione ridotta a circa 30°C quindi si riprende il residuo con tetraidrofurano anidro (250 ml). A circa 20°C si aggiunge zinco in polvere (12.5 g) e tributilammina bromidrato (12.8 g). La temperatura della massa di reazione sale lentamente a 27-30°C, quindi si agita la miscela di reazione a 35°C per 3 ore.

Si filtra via il solido presente lavandolo con tetraidrofurano (50 ml) e si aggiunge una soluzione di sodio solfuro nonaidrato (23 g) sciolto a 50°C in acqua (12 ml). Si agita la sospensione così ottenuta per circa un'ora a 20-25°C, quindi si filtra lo zinco solfuro e si evapora la soluzione limpida a pressione ridotta a 30-35°C.

Si riprende il residuo con metanolo (80 ml) e si evapora il solvente sotto vuoto. Si ridiscioglie il residuo in metanolo (200 ml) e si aggiunge metilato sodico 30% in metanolo (1.7 g) e si agita la miscela di reazione per una notte a 20-25°C.

Si evapora a pressione ridotta circa 100 ml di metanolo, quindi si filtra il solido ottenuto lavandolo con metanolo freddo (15 ml). Si essicca il prodotto ottenendo circa 10 g di 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro-β-D-citidina (β-D-Fd4C) grezzo secco. Si scioglie il prodotto in metanolo (400 ml) a 35°C quindi si filtra via l'insolubile. Si evapora a pressione ridotta a 35°C la soluzione così ottenuta a circa 60 ml. Si raffredda a 0-5°C e si agita la sospensione a questa temperatura per circa un'ora. Si filtra il solido, si lava con metanolo freddo (10 ml) e lo si secca sotto vuoto a 30°C ottenendo 8.9 g di 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro-β-D-citidina (β-



Handwritten signature

D-Fd4C) puro (Resa 41%). P.f.: 185-186°C.

ESEMPIO 2

Didesossiadenosina (ddA)

Si sospende adenosina (10 g) in acetonitrile (100 ml) e si gocciola lentamente a 20-25°C il 2-acetossiisobutirrilbromuro (20.5 ml) sciolto in acetonitrile (80 ml). Al termine dell'aggiunta si agita la miscela di reazione per circa due ore. Quindi alla miscela di reazione si gocciola una soluzione di potassio bicarbonato (45 g) in acqua (180 ml) e cloruro di metilene (150 ml). Si separano le fasi e si estrae la fase acquosa con cloruro di metilene (50 ml). Si concentrano le fasi organiche riunite a pressione ridotta. Si scioglie il residuo in tetraidrofurano (100 ml) e a circa 20°C si aggiunge zinco in polvere (5 g) e tributilammina bromidrato (5.1 g). La temperatura della massa di reazione sale lentamente a 27-30°C, quindi si agita la miscela di reazione a 35°C per 3 ore.

Si filtra via il solido presente lavandolo con tetraidrofurano (20 ml) e si aggiunge una soluzione di sodio solfuro nonaidrato (9.2 g) sciolto a 50°C in acqua (4.8 ml). Si agita la sospensione così ottenuta per circa un'ora a 20-25°C, quindi si filtra lo zinco solfuro e si evapora la soluzione limpida a pressione ridotta a 30-35°C. Si riprende il residuo con isopropanolo (50 ml) e si evapora il solvente sotto vuoto. Si sospende il residuo in isopropanolo (150 ml), si aggiunge palladio su carbone al 5% (3 g) e si idrogena a 2-3 bar e 50°C per 2 ore. Si filtra via il catalizzatore lavando con isopropanolo (75 ml), quindi si aggiunge a 20-25°C sodio idrossido al 30% (9 ml) e si agita la miscela di reazione a 20-25°C per 2 ore. Si filtra via l'insolubile formatosi e si concentra la soluzione in isopropanolo limpida a pressione

Handwritten notes:
K₂CO₃
S₂O₃²⁻

ridotta. Si ridiscioglie il residuo con etanolo (90 ml) a riflusso, quindi si lascia cristallizzare il prodotto a temperatura ambiente, quindi si raffredda a 0-5°C e si agita la sospensione a questa temperatura per un'ora. Si filtra il solido, si lava con etanolo freddo (10 ml) e si secca sotto vuoto ottenendo 3 g di Didesossiadenosina (ddA) (Resa 38%) p.f.: 182-183°C

ESEMPIO 3

Didanosina (ddI)

Si sospende Inosina (10 g) in acetonitrile (180 ml) e si gocciola lentamente a 20-25°C il 2-acetossiisobutirrilbromuro (20.5 ml) sciolto in acetonitrile (40 ml). Al termine dell'aggiunta si agita la miscela di reazione per circa tre ore. Quindi alla miscela di reazione si gocciola una soluzione di potassio bicarbonato (45 g) in acqua (180 ml) e cloruro di metilene (150 ml). Si separano le fasi e si estrae la fase acquosa con cloruro di metilene (50 ml). Si concentrano le fasi organiche riunite a pressione ridotta. Si scioglie il residuo in tetraidrofurano (160 ml) e a circa 20°C si aggiunge zinco in polvere (5 g) e tributilammina bromidrato (10 g). La temperatura della massa di reazione sale lentamente a 27-30°C, quindi si agita la miscela di reazione a 35°C per 3 ore.

Si filtra via lo zinco presente lavandolo con tetraidrofurano (20 ml) e si aggiunge una soluzione di sodio solfuro nonaidrato (9.2 g) sciolto a 50°C in acqua (4.8 ml). Si aggiunge magnesio solfato anidro (10 g) e si agita la sospensione così ottenuta per circa un'ora a 20-25°C, quindi si filtra lo zinco solfuro.

Alla soluzione in tetraidrofurano si aggiunge sodio idrossido concentrato (10 ml) e si agita la miscela di reazione a 20-25°C per un'ora ottenendo un

Handwritten:
Finire
Cristallizzare

precipitato. Si separa il tetraidrofurano dal solido e si sospende questo solido in metanolo (200 ml). Si aggiunge palladio su carbone 5% (5.5 g) e si idrogena a 2-3 bar. Si filtra via il catalizzatore e si evapora il solvente a pressione ridotta. Si scioglie il residuo in acqua (50 ml) e si porta il pH a circa 7 con acido cloridrico diluito. Si evapora a secchezza a pressione ridotta e si sospende il residuo in isopropanolo (50 ml). Si filtrano via i sali e si concentra la soluzione a circa 20 ml. Si raffredda la sospensione così ottenuta a 0-5°C e si agita a questa temperatura per una notte. Si filtra il solido, si lava con isopropanolo (5 ml) e si secca sotto vuoto ottenendo 2 g di Didanosina (Resa 23 %). P.f.: 177-178°C.

ESEMPIO 4

5' Acetil Stavidina (5'-Acd4T)

Si aggiunge zinco in polvere (16 g) e una soluzione di 2'-Bromo-3',5'-diacetilimidina (50 g) preparata come descritta nella domanda di brevetto MI2000A000810 in tetraidrofurano (710 ml) e dimetilsolfossido (40 ml). Si aggiunge quindi la tributilammmina bromidrato (49 g). La temperatura della massa di reazione sale lentamente a 27-30°C, quindi si agita la miscela di reazione a 35°C per 3 ore.

Si filtra via lo zinco presente lavandolo con tetraidrofurano (100 ml) e si aggiunge una soluzione di sodio solfuro nonaidrato (29.6 g) sciolto a 50°C in acqua (15.5 ml). Si aggiunge magnesio solfato anidro (125 g) e si agita la sospensione così ottenuta per circa 6 ore a 20-25°C, quindi si filtra lo zinco solfuro. Si evapora la soluzione così ottenuta a pressione ridotta e si riprende il residuo in isopropanolo (230 ml) e si agita la sospensione a 40°C per 30 minuti quindi a 20-25°C per 4 ore. Si filtra il solido così ottenuto e la

Handwritten notes:
Knein
Si

si lava con isopropanolo (50 ml). Si scioglie a caldo il prodotto grezzo umido con isopropanolo (580 ml), si raffredda a 20-25°C e si agita la sospensione a questa temperatura per un'ora. Si filtra il solido, si lava con isopropanolo (50 ml) e si secca sotto vuoto a 40°C ottenendo 18 g di 5'Acetil Stavudina (Resa 55%). P.f.:179-180°C.



Cristina Frain

RIVENDICAZIONI

1. Un processo per la preparazione di 2',3'-dideidro-2',3'-didesossinucleosidi di formula



in cui

P' rappresenta idrogeno o un idoneo gruppo protettivo P e

B rappresenta una base purinica o pirimidinica, naturale o modificata, eventualmente sostituita oppure un sistema eterociclico, eventualmente sostituito, monociclico a cinque o sei membri o biciclico a undici-dodici membri contenente almeno un atomo di azoto;

che comprende la reazione di eliminazione riduttiva del composto di formula



in cui

X e Y rappresentano alternativamente un alogeno o un gruppo acilossi RCOO-

P' e B hanno i significati sopra riportati,

per reazione con zinco metallico ed un opportuno agente attivante,

caratterizzato dal fatto di rimuove lo zinco bivalente per precipitazione, da una fase organica, del corrispondente solfuro di zinco, mediante aggiunta a detta fase organica di una soluzione di un solfuro inorganico.

Cristina Kne

2. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui:

- P' rappresenta un gruppo acile $\text{RCO}-$, in cui R rappresenta un alchile R^1 C_1-C_5 , preferibilmente un metile, oppure un gruppo $\text{R}^1\text{COOC}(\text{R}^2\text{R}^3)-$, in cui R^1 , R^2 e R^3 rappresentano un alchile C_1-C_5 , preferibilmente un metile;

- B rappresenta una base purinica o pirimidinica naturale, eventualmente sostituita, preferibilmente adenina, inosina, 5-F-citosina, ipoxantina o timina;

- X e Y rappresentano, alternativamente, bromo e un gruppo acilossi $\text{RCOO}-$, in cui R rappresenta un alchile R^1 C_1-C_5 , preferibilmente metile, oppure un gruppo $\text{R}^1\text{COOC}(\text{R}^2\text{R}^3)-$, in cui R^1 , R^2 e R^3 rappresentano un alchile R^1 C_1-C_5 , preferibilmente un metile.

3. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detto agente attivante è scelto tra rame, acido acetico e sali di ammonio o fosfonio, preferibilmente tra i sali di ammonio o fosfonio.

4. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detta fase organica è scelta tra solventi quali tetraidrofurano, dimetilacetammide, alcoli, acetonitrile, solventi clorurati, dimetilsolfossido o loro miscele.

5. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detta soluzione di solfuro comprende un solvente polare scelto tra solventi aprotici dipolari e acqua, preferibilmente acqua.

6. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detta soluzione di solfuro comprende il solfuro alcalino o alcalino-terroso prescelto in quantità di almeno un equivalente rispetto al prodotto di partenza, preferibilmente in un leggero eccesso.

7. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detto solfuro

Linea
Sintesi

inorganico è un solfuro alcalino o alcalino-terroso, preferibilmente solfuro di sodio.

8. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui il solfuro di zinco precipitato viene rimosso per filtrazione.

9. Un processo secondo la rivendicazione 1 che comprende ulteriormente la reazione di riduzione del doppio legame del composto di formula I a dare il corrispondente 2',3'-didesossinucleoside di formula



in cui

$X=Y=H$, e

P' e B assumono i significati sopra riportati.

10. Un processo secondo la rivendicazione 1 che comprende ulteriormente la reazione di deprotezione di un composto di formula



in cui P' rappresenta un gruppo proteggente P , e B assume i significati sopra riportati,

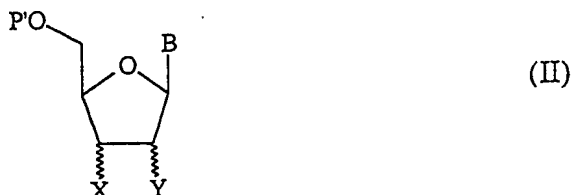
a dare il corrispondente composto di formula I,

in cui P' rappresenta idrogeno.

11. Un processo secondo la rivendicazione 9 che comprende

Cristina Fagnoli

ulteriormente la reazione di deprotezione del un composto di formula



in cui P' rappresenta un gruppo proteggente P, X e Y rappresentano H, e B assume i significati sopra riportati,

a dare il corrispondente composto di formula II,

in cui P' rappresenta idrogeno.

12. Un processo per la preparazione di 5-fluoro-2',3'-didesossi-2',3'-dideidro-β-D-citidina, stavudina, didesossiadenosina, didanosina e zalcitabina che comprende un processo secondo le rivendicazioni da 1 a 10.

Il Mandatario

Dr.ssa Cristina Fraire

Della Dragotti & Associati Srl

(Iscr. Albo No. 933B)

Cristina Fraire

